

<p>79830 C/45      A85 B04 D16 J03      MATU 16.03.79  MATSUSHITA ELEC IND KK      *J5 5124-060</p>	<p>A(12-E, 12-W11B) B(4-B2C2, 4-B4A, 4-C1, 4-C3, 5-C6, 10-A6, 11-C8, 12-K4) D(5-A1) J(4-B1). 6      348</p>
<p>16.03.79-JA-031478 (24.09.80) G01n-27/30 H01m-08/16  Enzyme electrode for rapid analysis of specific substrates - obid. by immobilising redox enzyme on electrode base contg. conductive material, insol. redox cpd. binder and immobilising auxiliary</p>	
<p>Enzyme electrode is fabricated by immobilizing a redox enzyme (e.g. glucose oxidase) on an electrode base composed of (a) electroconductive material (typically graphite), (b) insoluble redox compound capable of coordinating with the redox enzyme (e.g. chloranil), (c) binder (esp. polytetrafluorethylene, styrene-butadiene rubber and/or polyvinylalcohol), and (d) immobilizing auxiliary (preferably albumin or polylysine).</p> <p><u>USE/ADVANTAGE</u>  The enzyme electrode is used for rapid analysis of specific substrates. Use of the plastic binder results in improved flexibility of the enzyme electrode.</p> <p><u>EXAMPLE</u>  100 pts. wt. of graphite powder was mixed with 10-20 pts. wt. of aqueous polytetrafluorethylene dispersion (specific gravity 1.5, solid content 60 wt. %) and 5 pts. wt. of albumin. After drying, a small quantity of chloranil</p>	<p>was added. The mixture was then rolled to obtain a sheet. The sheet was then stamped to obtain the electrode base having desired shape. The base was then coated with aqueous glucose oxidase solution, dried, and treated with glutaraldehyde to immobilize the enzyme.(3ppW173).</p> <p>J55124060</p>

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭55-124060

⑬ Int. Cl.<sup>3</sup>  
G 01 N 27/30  
27/40  
H 01 M 8/16

識別記号

庁内整理番号  
7363-2G  
7363-2G  
7268-5H

⑭ 公開 昭和55年(1980)9月24日

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 3 頁)

⑮ 酵素電極

⑯ 特 願 昭54-31478  
⑰ 出 願 昭54(1979)3月16日  
⑱ 発 明 者 南海史朗  
門真市大字門真1006番地松下電  
器産業株式会社内  
⑲ 発 明 者 中村研一

門真市大字門真1006番地松下電  
器産業株式会社内  
⑳ 発 明 者 飯島孝志  
門真市大字門真1006番地松下電  
器産業株式会社内  
㉑ 出 願 人 松下電器産業株式会社  
門真市大字門真1006番地  
㉒ 代 理 人 弁理士 中尾敏男 外1名

明 細 書

1. 発明の名称  
酵素電極

2. 特許請求の範囲

- (1) 電子伝導性物質と、酸化還元酵素と共役する不溶性レドックス化合物と、結着剤と、固定化助剤からなる電極基体上に前記酸化還元酵素を固定化したことを特徴とする酵素電極。
- (2) 結着剤が、ポリ4フッ化エチレン、スチレン-ブタジエンゴムおよびポリビニルアルコールよりなる群から選択したものである特許請求の範囲第1項記載の酵素電極。
- (3) 固定化助剤が、アルブミンあるいはポリリジンである特許請求の範囲第1項記載の酵素電極。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、酵素の特異的触媒作用を受ける基質に対して電気化学的活性を有し、基質の濃度を迅速かつ簡便に測定することができ、しかも連続使用、繰り返し使用のできる酵素電極を得ることを目的とする。本発明は、また酸素電極などと組み

合わせることにより、基質のもつ化学エネルギーを電気エネルギーに変換する電池に用いられる酵素電極に関する。

近年、種々の酵素の利用技術の進歩に伴い、これら酵素の有する特異的触媒反応を工業的に利用する試みが行われている。その一例として酵素反応系と電気化学反応系を結びつけることにより、酵素と特異的に反応する物質である基質の濃度を検出することが試みられている。

先に本発明者らは、固定化酵素、レドックス化合物、集電体としての電子伝導性物質を適切な状態に一体化した酵素電極を提案した(特願昭52-117474)。その中で酵素電極により酵素基質の迅速な測定が可能であることについて詳細に説明した。これら酵素電極は、一例として、電子伝導性物質としての例えばカーボン粉末とレドックス化合物との混合物をプレス成型し、この成型体上に酵素を固定化する方法、あるいは前記混合物中に予め酵素を固定化したカーボン粉末を混合しておき、その後成型体とする方法などにより構成

される。この酵素電極の諸性能は十分満足し得るものであったが、電極成型体は柔軟性に乏しく、成型後に成型体を任意の形状に変形することができない、あるいは強度の点でもろいなどの弱点を有するものであった。

本発明者らは、上記の点について改良を重ねた結果、電子伝導性物質とレドックス化合物の混合物に結着剤を添加し、さらにアルブミンなどの固定化助剤を加えて得られた電極基体上に酵素を固定化することにより、柔軟性に富み、加工性に優れ、かつ高い酵素活性を有する酵素電極を得ることに成功した。本発明の酵素電極は、機械的強度が大であり、繰り返し使用に伴う洗浄などの操作によってその電極機能が損なわれることなく、かつ長期間にわたって安定な性能を維持しうるものである。

使用する結着剤としては、酵素-レドックス化合物-基質間の共役反応を阻害するものであってはならず、特に酵素との相互作用がなく、かつ化学的に安定であり、長期間にわたって結着性が失

あるいは樹脂ネットを介してローラーを通し、シート状の電極基体を成型する。得られた電極基体上にグルコースオキシダーゼ水溶液を塗布し、乾燥後、架橋試薬としてグルタルアルデヒドを用いて酵素を固定化した。

この様にして得られた酵素電極は柔軟性に優れており、円筒形状、スパイラル形状などの構造を持たせることができ、また、任意の形状に打ち抜くことにより応答性能の揃った電極を量産することも可能である。

第1図は、円形に打ち抜いた本発明の酵素電極を使用して、グルコースに対する応答特性を測定する場合の測定セルを示す。図中1は本発明の酵素電極で、1aは電極本体、1bは白金集電板、1cはリード、1dは電極枠である。2は参照極、3は多孔性ガラスフィルター、4は白金対極、5は基質であるグルコースを含む緩衝液である。

比較のため、結着剤、固定化助剤を使用しない従来例として、グラファイト粉末とレドックス化合物の混合物をプレス成型した後、この成型体上

われることなく電極の柔軟性を保持するものでなければならない。この様な要件を満たす結着剤として、ポリ4フッ化エチレン、スチレン-ブタジエンゴム、ポリビニルアルコールなどが有効であることが判明した。中でもポリ4フッ化エチレンは粘着力が大きく、シート状に加工した電極をさらにスパイラル形状とすることが可能であった。

また、固定化助剤として、アルブミン、ポリリジンなど分子中に多数のアミノ基を有する物質を添加しておくことにより架橋試薬を用いて容易に酵素を固定化することができ、かつ固定化に伴う酵素活性低下を減少させることができる。

以下、本発明をその実施例により説明する。

電子伝導性物質としてのアセチレンブラック、あるいはグラファイトなどのカーボン粉末100重量部に、ポリ4フッ化エチレンの水性デイスパージョン（比重1.5、固形分80重量%）10〜20重量部とアルブミン5重量部を添加混合し、脱水乾燥の後、さらにレドックス化合物として、クロルアニルを添加混合する。次に、金製ネット

に前記と同様の方法でグルコースオキシダーゼを固定化して酵素電極を作製し試験に供した。

第2図に前記酵素電極の25℃におけるグルコースに対する応答特性の一例を示す。酵素電極の電位を参照極の飽和カロメル電極電位に対し+0.40Vに設定しておき、測定セルにグルコースを添加した後得られる定常電流値の増加量を測定した。図中、Aは本発明による酵素電極、Bは従来方法による酵素電極の応答特性をそれぞれ示す。Aにおいては、Bに比較してわずかながら応答電流の減少が見られるが、これは結着剤の使用により電極の反応表面積が減少したためと考えられる。しかしながらグルコース濃度変化に対する応答直線性は本発明の酵素電極Aの方が優れている。

第3図にA、B各電極の、グルコース濃度が $3 \times 10^{-3}$ モル/lの場合の使用回数と応答特性の変化についての例を示す。測定は、1電測定に供した電極を緩衝液で十分洗浄した後、繰り返し測定に供した。

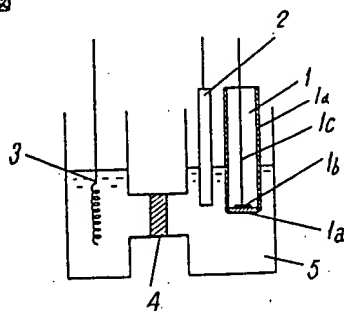
図より明らかな様に、Bにおいては使用回数の

池大に伴って応答電流は漸減するが、本発明の電極Aにおいては、この様な傾向はほとんど見うけられず、安定な応答性能を維持している。

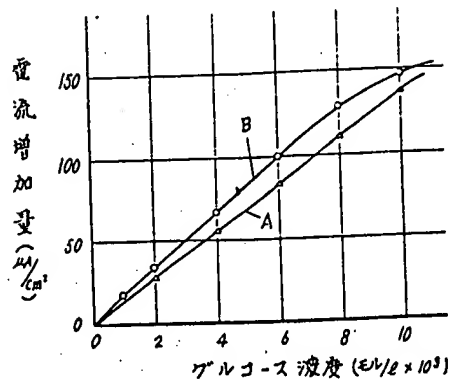
以上のごとく、溶剤、固定化助剤を添加した電極基体上に酵素を固定することにより、機械的性質に優れ、スパイラル状等任意の形状にし易く、有効な固定化酵素活性の高い酵素電極を得ることができる。

電導性を付与するために用いる電子伝導性物質としては、実施例に挙げたカーボンの他に、酸化スズ、酸化ルテニウムなどの導電性金属酸化物、あるいは金属炭化物、さらには、金、白金などの貴金属などをも用いることができる。また、固定化する酸化還元酵素としては、前記グルコースオキシダーゼ以外に、キサンチンオキシダーゼ、アミノ酸オキシダーゼなどのオキシダーゼ系酵素を用いることができ、さらには、アルコール脱水酵素、乳酸脱水酵素などの脱水酵素についてはこれら酵素の補酵素をも固定化して用いることができる。

第 1 図



第 2 図



特開昭55-124060(3)

不溶性レドックス化合物としては、クロロアニルの他に、ブロムアニルなどの不溶性化合物、あるいは不溶性レドックスポリマーも用いることができる。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は酵素電極を用いた場合の測定セルの構成を示す図、第2図は酵素電極のグルコースに対する応答特性を示す図、第3図は酵素電極の使用回数と応答特性の関係を示す図である。

代理人の氏名 弁護士 中 尾 政 男 ほか1名

第 3 図

